

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Chemická analýza kostí a její význam

Hana Michálková

Bakalářská práce

2017

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

Chemical Analysis of Bones and Its Significance

Hana Michálková

Bachelor work

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Hana Michálková**
Osobní číslo: **C14437**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Chemická analýza kostí a její význam**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Seznamte se se základními informacemi týkajícími se chemické analýzy kostí: základní složení, vliv nemocí a úrazů, léčiv, věku, stravovacích návyků, implantátů atd.
2. Na základě těchto informací vyberte oblast, ve které provedete podrobnou rešerši na téma využití chemické analýzy při sledování daného problému.
3. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Martin Bartoš, CSc.

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce:

28. února 2017

Termín odevzdání bakalářské práce:

3. července 2017



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedláček, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

.....

Hana Michálková

Děkuji vedoucímu své bakalářské práce Ing. Martinu Bartošovi, CSc. za jeho odborné vedení, poskytnutí cenných informací a materiálů, které mi pomohly při vypracování této práce. Dále děkuji své rodině a přátelům za jejich podporu a trpělivost při studiu.

ANOTACE

Bakalářská práce je zaměřena na problematiku analýzy kostí s využitím především chemických a biochemických metod. Zabývá se popisem struktury kostí, kostními onemocněními s důrazem na osteoporózu a také tím, jak chemické látky ovlivňují strukturu kostí. Pozornost je věnována i biomateriálům používaných jako kostní náhrady.

KLÍČOVÁ SLOVA

Kost, nemoci, léčiva, toxické látky, výživa, biomateriály, osteoporóza

ANNOTATION

This bachelor thesis focuses on the issue of bone structure analysis with the focal point of utilizing chemical and biochemical methods. It handles description of the bone structure itself and various bone diseases, focusing largely on osteoporosis. It is also dealing with bone structure changes caused by chemical substances, and finally, this thesis examines biomaterials used as bone replacements.

KEYWORDS

Bone, disease, medicine, toxic substances, nutrition, biomaterials, osteoporosis

Obsah

SEZNAM ILUSTRACÍ, TABULEK A ROVNIC.....	- 4 -
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	- 1 -
1. Úvod.....	13
2. Kostí.....	14
2.1. Složení kostí.....	14
2.1.1. Kostní matrix.....	14
2.1.2. Osteoblasty.....	15
2.1.3. Osteocyty.....	15
2.1.4. Osteoklasty.....	15
2.1.5. Periost a endost.....	16
2.2. Analytické metody.....	16
2.2.1. Mikrotom.....	16
2.2.2. Rentgenová fluorescence (XRF).....	17
2.2.3. Autoradiografie.....	17
2.2.4. Speciální techniky.....	18
2.3. Vyšetřovací metody v osteologii.....	18
2.3.1. Zobrazovací techniky.....	18
2.3.2. Biochemické metody.....	19
2.3.3. Histomorfometrie.....	23
2.4. Výživa.....	23
2.5. Hormony.....	24
2.6. Nemoci.....	25
2.6.1. Rachitis.....	25
2.6.2. Hypofyzární nanismus.....	25
2.6.3. Gigantismus.....	25
2.6.4. Osteomalacie.....	25
2.6.5. Osteoporóza.....	25
2.6.6. Osteodystrofie.....	26

2.6.7.	Renální osteodystrofie.....	26
2.6.8.	Akromegalie.....	27
2.6.9.	Pagetova choroba.....	27
2.7.	Léčiva.....	27
2.7.1.	Tetracyklin.....	27
2.7.2.	Ostatní antibiotika.....	28
2.8.	Toxické látky.....	28
2.8.1.	Hořčík.....	28
2.8.2.	Stroncium.....	28
2.8.3.	Hliník.....	28
2.8.4.	Galium.....	28
2.8.5.	Křemík.....	29
2.8.6.	Olovo.....	29
2.8.7.	Bílý fosfor.....	29
2.8.8.	Fluor.....	29
2.8.9.	Kadmium.....	29
2.8.10.	Uran.....	30
2.8.11.	Vinylchlorid.....	30
3.	Biomateriály.....	30
3.1.	Teplota a pH těla.....	31
3.2.	Užití.....	31
3.3.	Materiály.....	31
3.3.1.	Kov.....	32
3.3.2.	Keramika.....	32
3.3.3.	Polymery.....	33
3.3.4.	Kompozity.....	34
3.3.5.	Materiály založené na peptidech.....	34
3.3.6.	Kmenové a progenitorové buňky.....	34
3.4.	Náhrady tvrdých tkání.....	34

4.	Osteoporóza	35
4.1.	BMD.....	35
4.2.	Faktory	36
4.2.1.	Neovlivnitelné faktory	36
4.2.2.	Ovlivnitelné faktory	36
4.2.3.	Částečně ovlivnitelné faktory.....	36
4.3.	Symptomy	36
4.4.	Muži	36
4.5.	Osteoporóza idiopatická.....	37
4.6.	Glukokortikoidy	37
4.7.	Dětská osteoporóza	37
4.8.	Léčba.....	37
4.8.1.	Léčba pomocí fyzické aktivity	37
4.8.2.	Léčba pomocí hormonů.....	38
4.8.3.	Léčba difosfáty.....	38
4.8.4.	Léčba kalcitoninem	39
4.8.5.	Léčba pomocí fluoridových solí.....	40
4.8.6.	Léčba pomocí vápníku	40
4.8.7.	Léčba vitamínem D	41
4.8.8.	Léčba anabolickými steroidy	41
4.8.9.	Léčba parathormonem.....	42
4.9.	Léčiva.....	42
4.9.1.	Transdermální léčiva	42
4.9.2.	Perorální léčiva.....	43
4.9.3.	Perorální léčiva – kombinovaná	44
4.10.	Sledování postupu léčby	44
5.	Závěr	45
6.	Použitá literatura	46

SEZNAM ILUSTRACÍ, TABULEK A ROVNIC

Rov. 1 - Výroba hydroxyapatitu ⁷	32
Tab. 1 - Postup při přípravě vzorku na krájení mikrotomem ¹	16
Obr. 1 - Hydroxyprolin	21
Obr. 2 - Pyridinolin	21
Obr. 3 - Deoxypyridinolin.....	22
Obr. 4 - Estradiol.....	42
Obr. 5 - Kalciferol.....	43
Obr. 6 - Cholekalciferol	43
Obr. 7 - Mestranol.....	44
Obr. 8 - Norethisteron	44

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

XRF	Rentgenová fluorescence
EDTA	Ethylendiamintetraoctová kyselina
DEXA	Dual Energy X-Ray Absorptiometry
BMD	Bone Mineral Density
SOS	Speed of Sound
BUA	Broadband Ultrasound Attenuation
PTH	Parathormon
Pyd	Pyridinolin
D-Pyd	Deoxypyridinolin
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
PICP	C-terminální peptid prokolagenu
RIA	Regulatory Impact Assessment
SR- μ XRF	Mikro-rentgenová fluorescence založená na bázi synchrotronového záření
HA	Hydroxyapatit
TCP	Trivápenatý fosfát
SBF	Simulated Body Fluid
PLGA	Poly(lactic-co-glygolic) acid
PLLA	Poly-1-lactide acid
PCL	Polykaprolakton
PMMA	Polymethylmetakrylát
DBM	Demineralizovaný kostní matrix
BMP	Bone Morpohogenic Protein
STH	Somatotropní hormon
HRT	Hormon Replacement Therapy

1. Úvod

Díky technologickému pokroku je možné nyní studovat kosti i neinvazivními metodami a zachovat je tedy v neporušeném stavu. Tyto metody se stávají stále oblíbenějšími, jelikož jsou pro pacienta bezpečné a řadíme mezi ně například zobrazovací, biochemické a histomorfometrické metody. Z analytických metod se řadí mezi nejpoužívanější postupy rentgenová fluorescenční spektroskopie, která pomáhá rozšiřovat znalosti o složení kostí.¹¹

Pomocí těchto vyšetření lze nejen diagnostikovat různá onemocnění kostí, sledovat postup léčby a v průběhu jej také měnit, ale také zjistit složení kostí a vliv látek a léčiv na kostní tkáň.

Jelikož je soubor informací o složení kostí čím dál obsáhlejší, lze optimalizovat výrobu kostních implantátů.

Se znalostí účinku přijatých látek na kost je možné vyvíjet nové terapeutické postupy např. u léčby osteoporózy, která je diagnostikovaná u stále větší skupiny lidí, kvůli zlepšení kvality života, které vede ke zvýšení střední délky života.

2. Kostí

Kosti patří mezi specializovanou pojivovou tkáň a řadí se do nejtvrdějších tkání v lidském těle. Hned po chrupavce je to nejodolnější tkáň, která je schopná vzdorovat mechanickým stresům. Kosti tvoří hlavní podíl skeletu dospělého jedince, jsou oporou měkkým tkáním, chrání vnitřní orgány (lebka a žebra) a dochází v nich ke krvevorbě. V kostech se skladuje kalcium, fosfáty a jiné ionty, které jsou uvolňovány nebo skladovány v kontrolovaném režimu tak, aby iontové složení tělních tekutin zůstávalo stejné. Dále kosti slouží společně se svaly k vytváření pohybu.¹

2.1. Složení kosti

Kost je složená ze zvápenaté mezibuněčné hmoty, tedy kostního matrixu, a ze tří dalších různých typů buněk. Tyto tři typy buněk jsou osteocyty, které sídlí v lakunách, což jsou malé vchlípeniny v matrix. Dále osteoblasty, které tvoří organickou část mezibuněčné hmoty. Nakonec jsou to mnohjaderné elementy osteoklasty, které resorbují a přestavují kost. Z toho důvodu, že metabolity nemohou prostupovat zvápenatělou tkání, jsou v kosti umístěny kanálky, díky kterým dochází k přenosu látek mezi osteocyty a krevními kapilárami. Tenké válcovité kostní kanálky pronikají matrix. Těmito kanálky osteocyty komunikují štíhlými cytoplazmatickými výčnělky s osteocyty v okolí, s vnitřním a vnějším povrchem kosti a s krevními cévami prostupujícími matrix. Vnější i vnitřní povrch kostí je pokryt vrstvou tkáně zvanou endost, resp. periost. Tato vrstva obsahuje osteogenní buňky.¹

2.1.1. Kostní matrix

Okolo 50% suché hmotnosti kosti tvoří anorganické látky. Hlavními komponentami jsou vápník a fosfor, dále pak hydrogenkarbonát, citrát, hořčík, draslík a sodík. Díky studiím provedeným rentgenovou difrakcí se zjistilo, že vápník a fosfor se váží do krystalků hydroxyapatitu $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ a do sloučeniny amorfního fosforečnanu vápenatého $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Při studiu pomocí elektronového mikroskopu vypadají krystalky hydroxyapatitu jako destičky o rozměrech 40 x 25 x 3 nm, které jsou situovány podél kolagenních fibril, a v jejich okolí je amorfni základní hmota. Povrchové ionty hydroxyapatitu jsou hydratovány a kolem krystalu se vyskytuje vrstva z vody a iontů. Kvůli této vrstvě je možná iontová výměna mezi krystalem a tělními tekutinami.¹

Organickou část kostní tkáně tvoří kolagen typu 1 a amorfni základní hmota, obsahující glykosaminoglykany společně s proteiny. V kostní tkáni bylo nalezeno několik specifických glykoproteinů, jako je sialoprotein nebo osteokalcin, které obsahují rezidua kyseliny γ -

karboxyglutamové, a které ochotně váží kalcium a nejspíš jsou také důležitým faktorem kalcifikace kostní matrix. Zvápenatělé tkáně obsahující kolagen 1. typu glykoproteiny neobsahují. Glykosaminoglykany vyskytující se v kostech jsou například chondroitin-4-sulfát, chondroitin-6-sulfát a keratin sulfát. Kvůli vysokému obsahu kolagenu váže odvápněná kostní matrix velmi dobře barviva na kolagenní fibrily. Přísloušnou tvrdost a pružnost kostí připisujeme spojení hydroxyapatitu s kolagenními fibrilami. Odstraněním organických sloučenin se kost stane křehkou, ale zachovává si svůj tvar stejně, jako při odvápnění kosti. Demineralizovaná kost je pak stejně ohebná jako šlacha.¹

2.1.2. Osteoblasty

Osteoblasty zodpovídají za syntézu organických částí kostní matrix (kolagenu typu 1, proteoglykanů a glykoproteinů). Zabudování anorganických látek kosti závisí na přítomnosti živých osteoblastů. Osteoblasty se vyskytují na povrchu kosti těsně vedle sebe obdobně jako jednovrstevný epitel. Pokud se podílejí na vzniku matrix, mají kubický až cylindrický tvar, bazofilní cytoplazmu a vysokou aktivitu alkalické fosfatázy. Po ukončení této syntézy dochází ke zploštění, snížení bazofily a fosfatázové aktivity. Osteoblasty jsou pak postupně obkloповány mezibuněčnou hmotou a po úplném zakrytí novotvořenou matrix vznikne z tohoto osteoblastu osteocyt. Osteoblasty vypouštějí vzniklé molekuly v místě kontaktu s matrix a tvoří tak ještě nekalcifikovanou matrix mezi původní kostí a osteoblasty. Tento proces je označován jako apozice kostí a finálním krokem je kalcifikace nové matrix. Úkol osteoblastů při vyloučení kostního kolagenu byl zjištěn autoradiograficky po vstříknutí H-glycinu pokusným objektům.¹

2.1.3. Osteocyty

Osteocyty vznikají z osteoblastů a nacházejí se v lakunách, které se vyskytují mezi lamelami matrix, a mají tvar broušeného diamantu. Komunikace mezi těmito buňkami a krevními cévami probíhá pomocí mimobuněčné hmoty, která se nachází mezi osteocyty a kostní matrix. Aktivita těchto buněk slouží k udržení kostní mezibuněčné hmoty. Po jejich zániku dojde k resorpci matrix.¹

2.1.4. Osteoklasty

Osteoklasty jsou poměrně velké větvené pohyblivé buňky. V těle obsahují 5-50 jader (někdy i více), jejich výběžky mají různou tloušťku a tvar. Jsou k nalezení v resorbovaných kostech, v místech enzymaticky vyleptaných prohlubních v matrix, nazývaných Howshipovy lakuny. Ke vzniku osteoklastů dochází spojením krevních monocytů. Obsahují acidofilní

cytoplazmu a povrch aktivních buněk je zprohýbán. V těchto záhybech a v cytoplazmatických vakuolách byly nalezeny krystalky obsahující vápník, které patrně vznikly z povrchové membrány osteoklastu. V blízkosti záhybů se též nalézala rozpadající se kolagenní vlákna. Buňky vylučují kyselou fosfatázu, kolagenózu a další proteolytické enzymy, které rozkladně působí na kostní matrix a uvolňují kalcifikovanou základní hmotu.¹

2.1.5. Periost a endost

Periost a endost jsou osteogenní buňky a vaziva pokrývající vnější a vnitřní povrch kostí. Hlavními úkoly periostu a endostu je vyživování kostí a výroba nových osteoblastů pro růst a obnovu kostní tkáně. Periost pokrývá vnější povrch, je složen z fibroblastů a kolagenních vláken, která upevňují periost ke kosti a která jsou známá jako Sharpeyova vlákna. Vnitřní vrstva periostu je složena z plochých částic, které jsou schopny se mitoticky dělit a diferencovat v osteoblasty. Autoradiograficky bylo zjištěno, že tyto osteoprogenitorové buňky do sebe zabudovávají H-tymidin, který je pak v osteoblastech. Z toho lze usoudit, že mají obrovský vliv na růst a regeneraci kosti. Endost se vyskytuje na vnitřním povrchu kostních dutin a je složen z oploštělých osteoprogenitorových buněk a malého množství vaziva.¹

2.2. Analytické metody

2.2.1. Mikrotom

Tato technika spočívá v nakrájení objektu na tenké plátky pomocí přesných přístrojů – mikrotomů. Poté se tyto tkáně zakonzervují a zkoumají.¹

Tab. 1 - Postup při přípravě vzorku na krájení mikrotomem.1

Proces	Účel	Doba trvání
Ukotvení ve fixativu (Bouinův roztok, Zenkerův formalín)	Udržení struktury a složení objektu	Okolo 12 hodin, záleží na fixativu a velikosti testovaného objektu
Odvodnění alkoholem	Dehydratace tkání organickými rozpouštědly	6-24 hodin
Projasnění benzenem, toluenem či xylenem	Prosycení rozpouštědlem či plastickou pryskyřicí	1-6 hodin
Zaliti 60°C parafinem či pryskyřicí při pokojové teplotě	Zpevnění objektu a tedy příprava na krájení	1-3 hodiny

2.2.2. Rentgenová fluorescence (XRF)

Přenosná rentgenová fluorescence je nedestruktivní vyšetřovací metoda, která se využívá na určení prvků uložených v mineralizovaných částech těl živočichů. V těchto tkáních se ukládají látky (většinou přijaté potravou), které mohou ovlivňovat život jedince např. těžké kovy. Ačkoliv byla základní stavba kostí již popsána, tato metoda pomáhá rozšiřovat znalosti, které by mohly vést k lepšímu porovnávání mineralizovaných tkání (kosti, parohy, zuby,...) mezi různými živočišnými druhy. Bylo zjištěno, že nejvhodnější kostí k porovnávání je humerus (kost pažní), jelikož zvířecí a lidská jsou si na 80% podobné. Vědci také objevili, že např. v humeru slonů je vyšší hladina Fe než u jiných druhů. To je nejspíš způsobeno tím, že pažní kost u slonů nemá kostní morek, a tak se železo nedistribuuje krevní řečištěm do celého těla, ale ukládá se právě v kostech.¹¹ U této metody je třeba, aby antropolog znal základní parametry týkající se používaného rentgenového zařízení, jako např. hloubku výstupu rentgenových paprsků. Analytická hloubka byla definována testováním koňských kostních plátů.¹² Tato metoda má tedy význam ve forenzní analýze.¹¹

V in vivo testech bylo tímto způsobem testováno využití gadolinia jako kontrastní látky při magnetické rezonanci. Kvůli tomuto testování byla vyvinuta umělá kost, na které se užití gadolinia testovalo. Do této atrapy kosti byly vloženy prvky – Ca, Cl a Na, aby bylo dosaženo co největší podobnosti s lidskou kostí. Další fází výzkumu bude testování kontrastní látky na dobrovolnících.¹³

Pomocí XRF byla také měřena koncentrace olova v kostech u dětí. Otravy dětí olovem jsou globálním problémem objevujícím se hlavně v průmyslových oblastech, kde jsou zaměstnávány malé děti už od 5 do 7 let. Významná vzájemná souvislost byla nalezena mezi výsledky testování XRF na olovo v kosti a v krvi. Bylo zjištěno, že poločas rozpadu olova v krvi je 9,96 – 3,92 dnů. Kost je tedy významným biomarkerem olova u dětí.¹⁴

2.2.3. Autoradiografie

Metoda je popsána pro kvantifikaci autoradiografií tzv. bone-seeking isotopes (isotopy, které se usazují v osteocytech a nádorových buňkách a ničí tyto nádorové buňky nízkým stupněm radiace) v mikroskopické sekci kosti. V autoradiografiích kostních částí je isotope Ca^{45} . Další vnitřní kalibrační standardy se měří automaticky mikrodensitometrem. Digitalizovaný absorpční výstup je nahrán do počítače. Počítač poté na základě absorpce a anatomické polohy rozdělí vstřebávání isotopu Ca^{45} do 4 oblastí, kde každá oblast

reprezentuje určitý fyziologický proces – tvorba kosti, sekundární mineralizace, difúzní dlouhodobá a krátkodobá výměna povrchu.¹⁶

Postup se dá také využít na mikroradiografii kostních sekcí, kde je výstupem hustota kostí a zjištění minerálů v kosti.¹⁶

Autoradiograficky se také např. vyšetřoval přenos isotopu Sr^{85} mateřským mlékem, který se ukládal v kostech a v dentinu řezáků novorozených myší.¹⁷

2.2.4. Speciální techniky

Kost je velmi tvrdá, proto se při jejím zkoumání neuzívá mikrotomů, ale speciálních technik.¹

2.2.4.1. Metoda výbrusů

Jedna z těchto speciálních technik se zakládá na vybrušování plátků do tenkých průsvitných destiček. Získá se tzv. výbrus a ten se dále podrobuje výzkumu. Tato technika nezachovává buňky, ale lze s ní studovat matrix, lakuny (komůrky) i kanálky v kosti. Při výzkumu se pracuje s rozdílným refrakčním indexem lakun a kanálků a indexem lomu media užitého při montování preparátů. Výsledkem jsou světelné paprsky procházející lakunami a kanálky, které jsou odchýlené, a objektiv je tedy nezachytí – objeví se na výbrusu jako černé skvrny.¹

2.2.4.2. Metoda odvápnění kosti

Tato metoda dovoluje studovat i organickou část matrix. Využívá se zde odvápnění kosti – minerální složka se odstraní slabým roztokem kyseliny (např. 5% HNO_3) nebo roztokem obsahující chelatační činidlo (např. EDTA). Odvápněný objekt je pak zalit, nakrájen a obarven.¹

2.3. Vyšetřovací metody v osteologii

Vyšetřovací metody se neustále inovují, jelikož se objevuje mnoho nových informací ohledně fyziologie a biochemie kostí. Diagnóza se provádí na specializovaných pracovištích a dělí se na zobrazovací, biochemickou a histochemickou.⁶

2.3.1. Zobrazovací techniky

Tyto techniky se využívají při diagnóze kostí na kterékoliv části lidského těla.

- Radiografická diagnóza – Základní diagnostická metoda dokazující jak změny metabolické, tak degenerativní. Metabolická osteopatie se projeví až při snížení obsahu kostní hmoty na 70 – 65%. Dále se touto metodou určuje osteodystrofie.⁶
- Radiogrammetrické techniky – Tato diagnostická metoda se využívá při určení osteoporózy, u které se zjišťuje tloušťka kortikální trubkovité kosti vůči celkové šířce kosti.⁶
- Rentgenová denzitometrie (DEXA, BMD) - Tato metoda se přesně jmenuje Dual energy X-ray absorptiometry a využívá se ke zjištění množství kostního minerálu v těle a také ke stanovení osteoporózy u dospělých pacientů. Mechanismem této metody je různá absorpce fotonů v měkké a tvrdé tkáni. V tvrdé = kostní tkáni jsou hlavně vysokohmotnostní atomy jako např. vápník a v měkké lehké atomy jako vodík, uhlík a kyslík. Přesnost této techniky se pohybuje okolo 2,5 %. Radiační zátěž na tělo je poměrně nízká, tudíž s ní lze vyšetřovat i dětské pacienty. Výsledky poté zpracuje počítačový program.⁵ Jedná se o neinvazivní vyšetřovací metodu, u které se výsledky uvádí v g/cm². Existují dvě spektra, dle kterých se řídí diagnostika osteoporózy. První je T – skóre, se kterým srovnáváme počet standardních jednotek se střední hodnotou BMD pro mladé osoby. Druhé je Z – skóre, se kterým pracujeme při diagnóze osteoporózy u osob vyššího věku.⁶
- Ultrasonodenzitometrie – Tato technika není založena na ionizujícím záření a tím se liší od předchozích metod. Ultrazvukem zjistíme rychlost průchodu ultrazvuku kostí (SOS) a širokopásmové zeslabení ultrazvuku v kosti (BUA). Díky SOS zjistíme elasticitu a hustotu kostní tkáně a BUA ukáže hustotu a složení trámčité kosti. Pro toto testování je velmi vhodná patní kost.⁶

2.3.2. Biochemické metody

Biochemickou diagnózou se zjišťuje metabolismus vápníku a kostní metabolismus. Vyšetřuje se krevní obraz, funkce ledvin a jater a cesta látek, které se objevují v kalciovém a fosfátovém metabolismu. Je třeba otestovat i příštítná tělíska štítnou žlázou.⁶

- Kalcémie – Obvyklá koncentrace kalcia v lidském těle se pohybuje okolo 2,15 mmol/l – 2,65 mmol/l. Pro diagnózu metabolických osteopatií se využívá testování krevního séra, ve kterém se určuje i množství albuminu. Při odebírání krevního séra se nesmí užívat škrtidla, jelikož koncentrace kalcia se tak zvyšuje. Také je podmínkou,

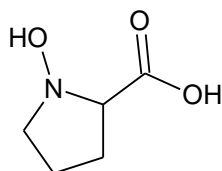
že vzorky musí být čerstvě odebrané. Pokud se zjistí, že je v těle nadbytek vápníku, diagnostikuje se buď primární hyperparatyreóza, intoxikace vitamínem D, metastáze na kostře, nebo například tyreotoxikóza či sarkoidóza. Nejspolehlivější je vyšetření ionizovaných frakcí vápníku pomocí selektivní kalciové elektrody – zde se optimální množství přibližuje hodnotě asi 1,21 mmol/l.⁶

- Kalciurie – Optimální hodnota kalciurie je mezi 3,75 – 6,50 mmol za den. Kalciurie se měří po třech dnech, kdy testovaná osoba drží bezkalciovou dietu – tzn., že má za den příjem menší než 5 mmol vápníku. Test se nazývá Nordinův a pomocí tohoto vyšetření se získá Nordinův index. Nordinův index je poměr vápníku v moči ku obsahu kreatininu v moči a obvyklá hodnota je 0,2 – 0,4 mol na 1 mol kreatinu. U pacienta se zkoumá ranní moč, která naznačuje (pokud pacient nemá renální hyperkalciurii), že tato osoba trpí osteoresorpčí. Pokud se člověk stravuje normálně, je u žen vylučování vápníku močí za den asi 6,25 mmol a u mužů 7,5 mmol.⁶
- Fosfatémie – Koncentrace fosfátu v séru by měla být mezi 0,70 až 1,40 mmol/l. Vzorky na otestování se berou ráno a na lačno. Při snížené hladině fosfátu je tato hodnota ukazatelem malabsorpce či nízké zpětné tubulární resorpce fosfátu v ledvinách.⁶
- Fosfaturie – Fosfaturie je ovlivněná tím, jak se člověk stravuje. Při velmi nízké koncentraci fosfátu v moči, tj. méně než 1 mmol za den, naznačují tyto hodnoty, že by se mohlo jednat o osteomalacii.⁶
- Kalciotropní hormony – Vyšetření kalciotropních hormonů není úplně obvyklé a využívá se, pokud má lékař podezření na hyperaktivitu příštítných tělísek – zkoumá se hodnota parathormonu a kalcitoninu. Hodnota PTH by měla být mezi 11 – 62 pg/ml. Hodnoty kalcitoninu se využívají při diferenciálnímu stanovení vitamínu D – obou forem (kalcidiol i kalcitriol).⁶

Kostní resorpce se zjišťuje buď z krve, nebo z moči. Při odběrech krve se určuje koncentrace tartarát – rezistentní kyselá fosfatázy (TrACP), která se vyskytuje v krevní plasmě.⁶ Tento test je ale poněkud nepřesný, jelikož výsledky mají vztah ještě i k jiným ukazatelům kostní resorpce.⁶ U testů ze vzorků moči je v tomto případě zajímavý hydroxyprolin, galaktosylhydroxylysin a pyridinolinové spojky.⁶

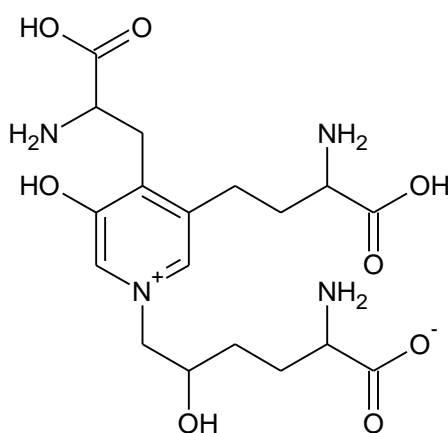
- Hydroxyprolin vzniká při rozbourávání kostního kolagenu, kumuluje se v játrech a v ledvinách dochází k jeho zpětnému vstřebávání. Z toho plyne, že močí se z těla

dostane asi jen 25% hydroxyprolinu. Jeho koncentrace by měla být mezi 16 – 22 mmol/mol kreatininu. Pokud jsou výsledky vyšší než optimální hodnota, ukazují na metabolickou osteopatii. Pacienti musí před vyšetřením držet po dobu 24 hodin bezkolagenovou dietu, tzn. že se musí vyhýbat například masu a želatině.⁶

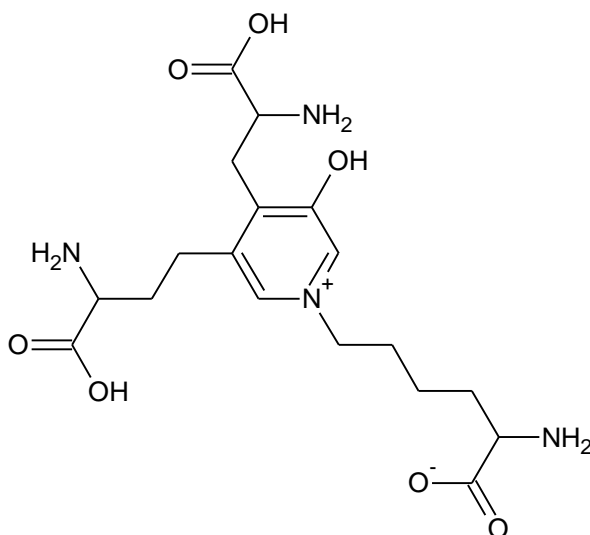


Obr. 1- Hydroxyprolin

- Na hladinu galaktosylhydroxylysinu nepůsobí kolagen, který se do těla dostane ze stravy. Opět vzniká z kostního kolagenu a jeho obsah v pokožce není vysoký. Z těla se ho močí dostanou asi jen dvě třetiny.⁶
- Pyridinolin (Pyd) a deoxypyridinolin (D-Pyd) jsou přesnějšími ukazateli osteoresorpce než hydroxyprolin, jelikož v těle prakticky nemetabolizují a ještě ke všemu vznikají pouze z kolagenu, který již byl zabudován do kolagenních fibril. D-Pyd je ještě lepší na určení osteoresorpce než Pyd, protože vzniká pouze z kostního kolagenu typu 1, který se vyskytuje jen v kostech. Pyd vzniká degradací jak kolagenu typu 1, tak kolagenu typu 2, který je k nalezení v chrupavkách. D-Pyd se vylučuje z těla ze dvou třetin ve vázané formě, zbytek ve formě volné. Jeho kvantita se zjišťuje pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) či radioimunoanalýzou. Obvyklé hodnoty Pyd v moči jsou 30 – 50 nmol/mmol kreatininu a u D-Pyd 5 – 15 nmol/mmol kreatininu.⁶



Obr. 2 - Pyridinolin



Obr. 3 - Deoxyypyridinolin

Kostní novotvorbu nejvíce ovlivňují látky jako osteokalcin, kostní izoenzym alkalické fosfatázy či určení množství C – terminálního peptidu prokolagenu (PICP).

- Kostní izoenzym alkalické fosfatázy – Tato látka se využívá při stanovení dle Štěpána (r. 1976), u kterého dojde k její tepelné deaktivaci. Existují tři typy izoenzymů – jaterní, střevní a kostní. Třetí typ vzniká z osteoblastů a velmi dobře se jím určuje kostní novotvorba. Optimální množství alkalické fosfatázy je 0,76 $\mu\text{kat/l}$. Nadprůměrné hodnoty jsou časté u dospívajících a dětí. Pokud se nedaří určit novotvorbu dle kostního typu, využívá se jaterních enzymů (5–nukleotidáza nebo γ –glutamyltransferáza), jejichž určení souvisí s kostními izoenzymy. Mezi nejnovější metody patří například radioimunoanalýza sérového izoenzymu (B–ALP).⁶
- Osteokalcin – Tato nekolagenní bílkovina je marker naznačující kostní růst. Kvůli jeho velikosti se dobře vylučuje močí, a pokud tedy pacientovi selhávají ledviny, odráží se to ve zvýšeném množství osteokalcinu v krevním séru. Testování probíhá jako imunoanalytické vyšetření buď proti nepoškozené molekule osteokalcinu, nebo proti syntetické části osteokalcinu. Standardizace postupů a určování osteokalcinu v séru je spojeno s několika problémy. Předpokládá se, že nedokonale karboxylovaný osteokalcin ovlivňuje jeho vyšší koncentraci v krevním séru seniorů – to by mohlo souviset i s absencí vitamínu K ve vyšším věku. Při měření pomocí RIA se králičí protilátky staví proti osteokalcinu pacienta a hodnoty by se měly pohybovat mezi 5,30 – 7,30 $\mu\text{g/l}$.⁶

- PICP – C – terminální peptidy prokolagenu I vznikají při vsazení kolagenu do kostní matrix, kdy se odštěpují koncové řetězce. Jejich množství tedy úzce souvisí s množstvím vzniklého kostního kolagenu a naopak není vůbec ovlivněno kostní resorpcí. Poločas terminálních peptidů je asi 6 – 8 minut a svoji cestu končí v játrech, kde jsou vychytávány speciálními senzory. Dle RIA jsou průměrné hodnoty u žen 50 až 170 µg/l a u mužů 38 – 202 µg/l.⁶

2.3.3. Histomorfometrie

Při tomto vyšetření se provádí biopsie vzorku kosti například z kyčelní kosti. Pomocí této metody se dá velice dobře vyzkoumat, jak vypadá vnitřní stavba kosti. Zjistíme díky ní poměr mineralizované a naopak nemineralizované matrix, jak vypadají osteocyty a míra resorpce a novotvorby kostí. Biopsie je ukazatelem postmenopauzální osteoporózy, renální osteodystrofie, vitamin D – rezistentní rachitis nebo např. osteomalacie.⁶

2.4. Výživa

Je velmi důležité dbát na přísun živin v období vývoje. Kost je citlivá například na nedostatečný přísun bílkovin nebo vápníku. Kvůli malému množství bílkovin by mohlo dojít k tomu, že by tělo mělo nedostatek aminokyselin a došlo by tedy ke snížení vznikajícího objemu kolagenu v osteoblastech. Nedostatek kalcia by například způsobil, že organická kostní hmota by nedokonale kalcifikovala. K tomu může dojít při malém příjmu vápníku ze stravy nebo nízkým obsahem vitaminu D v těle. Vitamin D totiž hraje významnou roli při vstřebávání kalcia v tenkém střevě.¹ U kojenců je potřeba dostatečné množství vitaminu D (jako prevence rachitis), které se získá buď dostatečným vystavením dítěte slunečnímu záření – což není v našich geografických podmínkách vždy jednoduché zajistit nebo přidáváním vitaminových preparátů do stravy. Je doporučeno přidávat 400-500 IU vitaminu D od 2. týdne po porodu do dokončení roku života. V zimních měsících by se měl vitamin D dodávat i ve dvou letech dítěte.⁵

V kostře se ukrývá 99 % vápníku v lidském těle a tak slouží jako jeho zásobárna. V krvi a tkáních se udržuje stále stejná koncentrace vápníku, ačkoliv dochází k neustálé výměně mezi kalcielem v krvi a v kostech. Vápník získaný z potravy se ihned ukládá do kostí nebo se vylučuje močí nebo stolicí. Pokud dojde ke snížení hladiny vápníku v krvi, uvolní se uložený vápník z kostí, a tak se zvýší jeho koncentrace v krvi. V případě, že by přísun vápníku potravou byl nedostatečný, došlo by k odvápnění kostí. Takové kosti jsou pak mnohem křehčí, a dochází tedy k častým frakturám, a jsou také prostupnější pro RTG záření.

Existují dvě možnosti, jak lze vápník z kostí vybudit. Jeden z nich je rychlý – jde o přenos iontů z hydroxyapatitových krystalů do mezibuněčné tekutiny. Poté se vápník dostane do krve. K tomuto způsobu mobilizace dochází většinou ve spongiózní kosti, protože je zde na povrchu mnoho hydroxyapatitových krystalů. Druhý mechanismus je pomalejší – je řízen hormonálně. Díky parathormonu dochází ke zvýšení počtu osteoklastů a pozitivně ovlivňuje i jejich aktivitu. Osteoklasty (jak je již zmíněno výše) ničí kostní matrix, a tak se uvolní vápník. Při nadměrné koncentraci tohoto hormonu v těle dojde k zesílené resorpci matrix, následně k vysoké koncentraci krevního vápníku a k ukládání kalcia v některých tělních orgánech, hlavně v ledvinách a ve stěnách tepen. Vitamin D má také velký vliv na osifikaci. Bylo to potvrzeno pokusy in vitro, kdy ke kostní tkáni, kultivované v mediu obsahujícím vápník, nebyl přidáván vitaminu D. Tato kost nebyla řádně osifikována. Nadměrné množství vitaminu působí naopak toxicky a dochází k ukládání vápníku do měkkých tkání.¹

Kyselina askorbová také přímo působí na kosti. Je důležitá pro vznik kolagenu v osteocytech a osteoblastech. Při malém množství vitaminu C v těle dojde ke zpomalení růstu kostí a hojení ran.¹

Vitamin K také ovlivňuje růst a kvalitu kostí.

2.5. Hormony

Hormony ovlivňují růst kostí. Řadíme mezi ně parathormon, který ovlivňuje přísun vápníku (viz výše).¹

Dále mezi ně patří kalcitonin, který vzniká v parafolikulárních buňkách štítné žlázy, a negativně působí na resorpci kostní matrix.¹ Má také analgetický a hypokalcemický účinek. Je zároveň hormon (ukazatel nádorového onemocnění) i léčivo. Koncentrace kalcitoninu u žen je menší než u mužů a jeho vylučování klesá i se zvyšujícím se věkem.⁶ Přední lalok hypofýzy vylučuje růstový hormon, který ovlivňuje především růstové chrupavky.¹

Pohlavní hormony – androgeny a estrogeny – ovlivňují osteogenezi, tedy množství a vývoj osifikačních center. Při předčasném sexuální dozrání, které je způsobeno tumory vylučujícími pohlavní hormony, dochází ke snížení rychlosti růstu, poněvadž epifyzární chrupavky jsou velice rychle vyměňovány za kostní tkáň. Pokud ovšem dojde k nedostatku těchto hormonů, způsobeném vykleštěním či odlišným vývojem pohlavních orgánů, doba aktivity růstových chrupavek se protáhne a dochází k vysokému vzrůstu jedince.¹ Estrogeneru není po klimakteriu dostatek, a tak dochází ke kostní resorpci asi u 33% žen.⁶ Tento hormon

ovlivňuje i vasodilataci cév, a tedy i vznik aterosklerózy, Alzheimerovy choroby nebo některých druhů rakovin, stárnutí a paradentózu.⁶

2.6. Nemoci

2.6.1. Rachitis

Rachitis neboli křivice je onemocnění u dětí způsobené nedostatkem kalcia. Dochází k nedokonalé kalcifikaci matrix, k pomalejšímu růstu kostí a i k jejich deformaci – změny na dlouhých kostech, hrb, zúžení pánevního východu, skolióza, kyfóza.^{1, 6} Maloleté děti jsou kvůli této nemoci mrzuté a nepokojné.⁶ Znaky typické pro křivici se vyskytují spíše u pacientů, kteří mají závažné jaterní problémy.⁵ Dalo by se říci, že rachitis je osteomalacie u dětských pacientů. Křivice se začne projevovat během 3. měsíce života dítěte, ale plně se rozvine až mezi 6. – 12. měsícem roku života.⁶

2.6.2. Hypofyzární nanismus

Hypofyzární nanismus neboli trpaslictví je vyvoláno nedostatkem růstového hormonu, který je vylučován předním lalokem hypofýzy, v růstovém období.¹

2.6.3. Gigantismus

Gigantismus je naopak způsoben přebytkem růstového hormonu.¹

2.6.4. Osteomalacie

Osteomalacie je také způsobena nedostatečným množstvím vápníku, ale u dospělých. Nově vytvořená kost není dostatečně kalcifikována a kosti již zvápenatělé jsou odvápněny. Dospělí jedinci nemají růstovou chrupavku, a tak u nich nedochází ani ke zpomalení růstu kostí, ani k deformacím.¹ Projevy osteomalacie jsou kostní deformace, lámavost kostí, svalová ochabnutí a špatný růst. Pokud má pacient i nedostatek vitamínu D, připojují se k příznakům také tetanické křeče.⁶ Tato nemoc často ohrožuje těhotné ženy, protože plod potřebuje velké množství vápníku.¹ Toto onemocnění je ze všech kostních metabolických onemocnění nejméně obvyklé. Části nemineralizované kosti se nazývají osteoidy. Když se osteoidy vyskytují blízko mineralizované tkáně, stávají se „zásobárnami“ tuku, zinku a také se do nich ukládají tetracykliny.⁶ Osteomalacie se nejčastěji diagnostikuje rentgenově.⁶

2.6.5. Osteoporóza

Osteoporóza je velmi podobná osteomalacii, až na ten rozdíl, že její původ není ve výživě. Množství minerálních látek je v poměru k organické matrix stejné. Nejčastěji se vyskytuje

u nepohyblivých osob a u žen po menopauze. Dochází k úbytku kostní hmoty sníženou tvorbou kosti či zvýšením kostní resorpce. Tyto dvě příčiny někdy působí i společně.¹ Jako prevence proti osteoporose se užívá fluorid sodný.³

2.6.6. Osteodystrofie

Nejznámější formou je primární hyperparatyreózní osteodystrofie, která se vyskytuje u pacientů s onemocněním příštítných tělísek. Při této nemoci dochází k narušení kostního metabolismu a také k poruše přeměně vápníku či fosfátů. Příčiny vzniku nejsou jasné, jedna z teorií zahrnuje dědičnost, jiná záření na krční oblast.⁶ Projevy této nemoci jsou dna a pseudodna. Vliv na kostní tkáň je takový, že dochází ke kostním změnám, které vznikají nadbytkem parathormonu. Existuje mnoho možností, kde se mohou poškození kosti objevit, a proto není diagnóza jednoduchá a často je nemoc diagnostikována velmi pozdě. PTH velmi rychle ničí kostní minerál, podporuje osteoklazi a chrupavkovitou přestavbu kosti. V kosti tak vznikají cysty a tumory. Díky pokusům in vivo bylo zjištěno, že PTH působí jak na osteoblasty, tak na osteoklasty – receptory by se tedy měly nacházet i na těchto buňkách. PTH působí na osteoblasty dvoufázově – prvně dochází ke zpomalení jejich aktivity, poté dojde k nárůstu množství těchto buněk a v kostech vznikají osteoidy. Na osteoklasty působí tento hormon tak, že se zvýší jejich množství. Vitamin D, kalcitonin a pohlavní hormony ovlivňují, jak moc bude parathormon ovlivňovat kostní tkáň. Léčbou této nemoci je chirurgický zákrok. Po odstranění nádoru se začne vápník a fosfáty ihned vylučovat močí a tak klesají jejich hodnoty. Rekonvalescence poté trvá 6 až 24 měsíců.⁶

2.6.7. Renální osteodystrofie

Toto onemocnění souhrnně označuje pro problémy s metabolismem minerálních látek, které souvisí s poruchou přeměny látek v kosti u pacientů s dlouhodobým onemocněním ledvin. Ledviny jsou orgán, který zasahuje do metabolismu vápníku a fosfátů a končí zde svou cestu i parathormon. V proximálním tubulu, který nalezneme v nefronech, což jsou ledvinné buňky, se nachází 25(OH)D-1 α -hydroxyláza, díky které vznikají aktivní metabolity vitamínu D = kalcitriolu = 1,25-dihydroxycholecalciferol, které jsou produktem druhé hydroxylace vitamínu D. Tato látka je důležitá pro vstřebávání vápníku a fosfátu ve střevě, ovlivňuje jejich vylučování z kostní tkáně a významně ovlivňuje působení parathormonu na kost. Obvyklá koncentrace v krevní plazmě se pohybuje mezi 20 až 60 pg/ml. První hydroxylace probíhá v játrech na 25. uhlíku vitamínu D a produktem této reakce je látka zvaná kalcidiol (25(OH)D).⁶ Není úplně jasné, jak vitamin D ovlivňuje mineralizaci kostí. Existují dvě teorie – první hovoří o tom, že vitamin přímo ovlivňuje mineralizaci. Druhá

tvrdí, že zvyšuje koncentraci vápníku a fosforu a tím nepřímo ovlivňuje tento pochod. U chronické formy je kost netečná vůči vlivu PTH, vylučování vápníku z kostí není optimální, což je patrně způsobeno nedostatkem kalcitriolu. Postupem času dochází k zadržování fosfátů a také ke kumulaci fluoru a hliníku v těle. Tyto dva prvky – fluor a hliník – pak způsobují osteomalacii. Symptomy jsou nejlépe zjištělné, pokud je nemocí, která se projevuje nejvíce, právě osteomalacie – pacient má obrovské bolesti kostí, které mohou dosáhnout takové míry, že se stane až nepohyblivým. Kostními bolestmi se projevuje také hyperparatyreózní osteodystrofie a osteoporóza, která vede i ke zlomeninám kostí. Nemoc se diagnostikuje pomocí kostní biopsie. Při léčbě je třeba dosáhnout optimální hladiny vápníku a fosfátu, doplnit vitamin D a snížit množství hliníku v těle. Po transplantaci ledviny není pravidlem zlepšení stavu pacienta.⁶

2.6.8. Akromegalie

Akromegalie je onemocnění, při kterém dochází k zesílení dlouhých kostí. Jeho příčinou je nadbytek růstového hormonu v dospělosti.¹

2.6.9. Pagetova choroba

Tato choroba je založena na místní poruše kostní přestavby.⁸ U této choroby dochází ke snížení hustoty kostí. Nejobvyklejším symptomem je bolest kostí, způsobená podrážděním periostu, ke kterému dochází zvýšenou metabolickou aktivitou. Nicméně, tato nemoc může probíhat i bez veškerých symptomů, a poté se diagnostikuje rentgenově nebo zvýšenou hladinou alkalické fosfatázy.⁹ Postihuje 2 až 3 procenta lidí nad 60 let v USA.⁸

2.7. Léčiva

Léčiva mohou mít na složení kosti jak kladný, tak i záporný účinek. Někdy je možné využít těchto vlastností i pro diagnostické metody.¹

2.7.1. Tetracyklin

Antibiotikum tetracyklin se využívá při diagnostické metodě, kdy zjišťujeme rychlost apozice kosti. Tato metoda je založena na faktu, že toto léčivo má fluorescenční schopnosti a ochotně reaguje s mineralizovanou kostní matrix. Využívá se při stanovení osteomalacie či osteitis fibrosa cystica. Antibiotikum je testovaným osobám podáváno 2x během 5 dnů, poté se odebere vzorek kostní dřevě pomocí biopsie a tento vzorek je zkoumán pomocí fluorescenčního mikroskopu. Jsou získávány informace o tom, jaká je vzdálenost mezi

fluoreskujícími vrstvami. Díky této informaci pak můžeme zjistit právě rychlost kostní apozice.¹

Tetracyklin má také negativní vliv na lidské tělo. Ukládá se do kostí v místech, kde byla kost zlomena či jinak porušena. V těchto oblastech dojde ke změně barvy na žlutou. K ukládání tetracyklinu dochází již uvnitř dělohy během 1. trimestru. Experimentálně bylo také dokázáno, že dochází ke zpomalení osteogeneze a toto léčivo má také velmi výrazný vliv na růst dlouhých kostí.²

2.7.2. Ostatní antibiotika

Idoxuridin, patřící mezi antivirotika, je teratogenní látka, která má negativní vliv na kostní dřeň, stejně jako na játra či zárodečné buňky. Při její aplikaci dochází ke znovuoobnovení represe neaktivních genů, což může vyústit v teratogenní či tumorózní účinky.² Dále Vidarabin (též antivirotikum), má vliv na krvetvorbu, která vzniká inhibicí aktivity kostní dřene.²

2.8. Toxické látky

2.8.1. Hořčík

Je důležité hlídat hladinu hořčíku, jelikož působí antagonisticky na vápník, který je důležitý při výstavbě kostí.³ Největší množství hořčíku je obsaženo v kostech.⁴

2.8.2. Stroncium

Velmi toxický je pouze radioaktivní isotop Sr^{90} , který se ve formě soli ukládá v kostech a funguje zde jako beta zářič, který má poločas rozpadu 28 let. Velice negativně působí na krvetvorbu.³ Tento radioisotop se z kostí prakticky nedá vyloučit.⁴

2.8.3. Hliník

Hliník působí na mineralizaci kostní matrix na jejím okraji, a tak zabraňuje vzniku hydroxyapatitu v těchto místech. Dále snižuje množství a činnost osteoblastů a osteoklastů, vylučování PTH z příštítných tělísek a vstřebávání vápníku ve střevě.⁶

2.8.4. Galium

Tato látka nepatří mezi toxické látky, ale také se ukládá do kostí.³

2.8.5. Křemík

Křemík je mikrobiogenním prvkem a jeho obsah v lidském těle je důležitý pro osifikaci kostí. Při jeho vdechování ve formě SiO_2 ovšem způsobuje silikosu plic a křemičitany azbestu jsou kancerogenní.⁴

2.8.6. Olovo

Olovo je jed, který se ukládá v kostech. Způsobuje rakovinu plic a ledvin. Olovnaté ionty jsou též embryotoxické a teratogenní. Při jeho expozici dochází k poškození lidských orgánů, jako například jater a ledvin. Způsobuje psychické a pohybové poruchy. Mezi chronické potíže se řadí šedý okraj dásní a bledost.³ Anorganické sloučeniny olova jsou krví přenášeny pomocí červených krvinek. Poločas rozpadu olovnatých sloučenin je v krevním řečišti 20 dní a v kostech 600-3000 dnů.⁴

2.8.7. Bílý fosfor

Fosfor se vyskytuje ve čtyřech modifikacích – bílý, červený, fialový a černý. Na kosti působí toxicky pouze bílý, ačkoliv i červená forma může obsahovat malé množství bílého fosforu. Při dlouhodobém vystavení toxickým účinkům dochází k poškození houževnatosti kostí až k nekróze dolní čelisti.³

2.8.8. Fluor

Sloučeniny fluoru se využívají preventivně ve formě rozpustných tabletek, které působí proti vzniku zubního kazu. Jeho užívání se však nedoporučuje, poněvadž fluor se ukládá v kostech, a ty se pak stávají křehkými. Při chronické expozici fluorovodíkem dochází k nadměrné kalcifikaci kostí a v kostech ubývá kostní dřev.³

2.8.9. Kadmium

Chronická expozice kadmiiem se projevuje bolestmi zad a nohou. Nejznámější nemoc způsobená působením organických sloučenin kadmia se nazývá Itai-itai (bolí-bolí). Poprvé se objevila v Japonsku. Byla způsobena konzumací kontaminované rýže, která obsahovala kadmium. Projevuje se lámáním a borcením kostí.

Kadmium intoxikuje i játra a plíce.³

2.8.10. Uran

Po kontaminaci se sloučeniny uranu v těle velmi rychle přeměňují. Pětina dávky se ukládá přímo ve skeletu, kde zůstává po velice dlouho dobu, a má se za to, že má negativní vliv na osteocyty. Mechanismus shromažďování uranu v kostech ale není doposud znám.¹⁵

Testy na myších pomocí mikro-rentgenové fluorescence využívající synchrotronového záření (SR μ -XRF) měly objasnit, jak se uran (po vniknutí do těla) rozšiřuje do trabekulární a kortikální část stehenní kosti. Bylo třeba zvolit tuto velmi přesnou metodu, jelikož do těla myši bylo vloženo jen velice malé množství tohoto prvku. Uran se přednostně ukládal do kalcifikujících se chrupavek a do nově vzniklé kostní hmoty podél trabekulární kosti.¹⁵

2.8.11. Vinylchlorid

Vinylchlorid se řadí mezi chlorované nenasycené uhlovodíky, při dlouhodobé expozici ničí kosti, cévy i kůži.³

3. Biomateriály

V této kapitole je důležité si nejprve objasnit tři hlavní pojmy: biomateriál, biologický materiál a biokompatibilita. Biomateriál je uměle vytvořená látka, která slouží při substituci určitého úseku živého systému nebo funkce a je v přímém kontaktu s živou tkání. Biologický materiál stavbou odpovídá kostní matici a je produkován živým systémem. Biokompatibilita je odpověď těla na vložení syntetického implantátu.⁷

Jde o to, aby implantát ovlivňoval organismus co nejméně.⁸ Existují tři aspekty, které by měly biomateriály dodržovat. Zaprvé musí být biochemicky kompatibilní, netoxické, nedráždivé, antialergenní a nesmí být karcinogenní. Zadruhé musí být biomechanicky kompatibilní s okolní tkání. Třetí vlastností je dobrá bioadhesivita v místě kontaktu mezi materiálem a živou tkání. Je třeba zdůraznit, že biokompatibilita záleží i na místě aplikace. Jiné podmínky jsou u kostních implantátů a jiné u implantátů, které jsou v kontaktu s krví. Tyto vlastnosti se zjišťují in vivo/in vitro testy.⁸

Každý lidský systém – jako trávicí, dýchací, apod. – má odlišnou biologickou odpověď na cizí materiál. Dle biokompatibility a reakce organismu se řadí biomateriály do tří kategorií⁸:

- Bioinertní/Biotolerantní – biomateriály, které nevyvolávají žádnou vazbu mezi implantátem a kostí, například bioinertní keramika jako oxid hlinitý nebo oxid zirkoničitý⁸
- Bioaktivní – skupina biokompatibilních materiálů, které se přímo připojí k živým tkáním a tvoří chemickou i biologickou vazbu ve velmi brzké době po chirurgickém zákroku, např. 45S5 biosklo nebo vápenatý fosfát (HA = hydroxyapatit)⁸
- Bioresorbovatelné – biokompatibilní materiály, které se postupně resorbují až úplně vymizí a jsou nahrazeny novou tkání, např. trivápenatý fosfát (TCP) nebo kostní cement⁸

Může ovšem dojít i k tomu, že tělo kostní implantát odmítne. Tato situace je celkem častá a dochází při ní k tomu, že zbytek biomateriálu vyvolá zánětlivou reakci, která brání nové stavbě kostní tkáně. Z tohoto důvodu se vědci snaží vynalézt ještě lepší a pro tělo snesitelnější materiály.⁸

3.1. Teplota a pH těla

Při vývoji biomateriálů je třeba také zahrnout fakt, že různé části těla mají různé pH. To se pohybuje mezi 1 (žaludek) až 7,4 (krev), ale mění se například při nemoci. Teplota je sice v celém těle téměř stejná (okolo 37,4 °C), ale opět může být odlišná v době, kdy tělo bojuje s nějakou nestandardní situací (podchlazení či naopak horečka), a to pak může teplota nabývat hodnot 20 – 42,5 °C.⁸

3.2. Užití

Biomateriály se využívají k substituci tkání, jako pomůcka při uzdravování, při zkvalitňování životních funkcí, při korekci vad, u kosmetických plastik, při diagnostice či při ošetřování pacienta. U kostí se využívá hlavně nahrazování tkání postižených či nemocných a na opravu funkčních vad ve formě kostních desek či například umělých kloubních náhrad.⁷

3.3. Materiály

Užití biomateriálů je bezpečné až od roku 1860, kdy se objevila Listerova sterilní chirurgická technika. Předchozí techniky zavedení cizích materiálů do těla nebyly úspěšné, kvůli napadení organismu infekcemi. Nejlépe dopadlo zavádění kostních desek, které sloužily k fixaci fraktur, ačkoliv i u těchto implantátů docházelo k mechanickým poruchám – desky se lámaly, protože nebyly nejlépe konstruované.⁷

3.3.1. Kov

První na trhu se objevila vanadová ocel, známá jako Shermanova. Jejím největším negativem byla její korozivní povaha.⁷

Dále existují nerezavějící oceli Cr-Ni nebo Mo-Zn. Tyto látky se zpracovávají za tepla.⁷

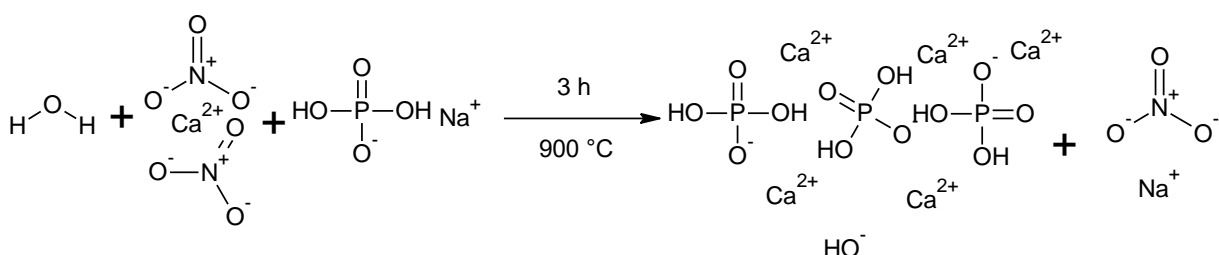
Slitiny na bázi kobaltu jako jsou CoCrMo a CoNiCrMo jsou používány zubaři a chirurgy jako kloubní implantáty – u pacientů s poškozenými kolenními či kyčelními klouby.⁷

Roku 1930 byly zjištěny výborné vlastnosti titanu a jeho sloučenin. Tyto látky jsou tělem výborně akceptovány, jsou lehké a mají i dobré mechanické vlastnosti.⁷

3.3.2. Keramika

Jedná se o tvrdé polykrystalinické sloučeniny s vysokou teplotou tání, nízkou vodivostí jak elektrickou, tak tepelnou, které jsou odolné i vůči žáru. Zahrnují se mezi ně anorganické sloučeniny jako silikáty, oxidy kovů nebo karbidy, dále hydridy, selenidy a sulfidy.⁷

Významnými sloučeninami jsou Ca – fosfáty, které mají výbornou biokompatibilitu⁷, bioaktivitu a osteokonduktivitu.⁸ Bioaktivita se testuje např. při in vitro testech, kdy se materiál potažený apatitem vápenatým ponoří do „simulované biologické tekutiny“ (SBF) obsahující elektrolyty, které jsou podobné prostředí séra.⁸ Osteokonduktivita je schopnost materiálu (z fosfátu vápenatého) chovat se jako předloha pro růst nové kosti.⁸ Z těchto látek se vyrábějí umělé kosti. Jsou známy dvě formy HA – jedna z nich je například β - whitlockite vyskytující se při vysokých teplotách a v suchém prostředí.⁷



Rov. 1 - Výroba hydroxyapatitu⁷

První aplikace vápenatých fosfátů na opravu kostí proběhla roku 1920. V sedmdesátých letech, ale hlavně v osmdesátých letech 20. století proběhly rozsáhlé studie, které zkoumaly jejich potencionální užití jako kostní implantáty. Vápenaté fosfáty (HA)

se užívají také jako bioaktivní povlaky na ortopedických a dentálních implantátech.⁸ Mezi metody nanášení fosfátů vápenatých na povrchy implantátu se řadí plasma spraying, laser deposition a ion beam deposition. Jiné typy vápenatých fosfátů a experimentální apatity se testují jako kostní transplantát nebo jako terapeutikum při léčbě osteoporózy.⁸

Karbonáty, které se užívají jako kostní implantáty, se vyrábí z biologických materiálů. Například komerční koralina HA je připravována hydrotermální konverzí korálů *Porites* (CaCO_3 , aragonitová forma) za přítomnosti fosforečnanu amonného.⁸

Dalším typem keramických implantátů je skelná keramika, která se vyrábí řízenou krystalizací skla. Jelikož je třeba, aby tento materiál byla jemnozrnný, přidávají se do něj jiné prvky a sloučeniny – například Cu, Ag, Au, TiO_2 , ZrO_2 a P_2O_5 . Na implantáty se užívá sloučenina $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$. Skelná keramika se používá jako výplňový kostní cement, krycí či zubní materiál.⁷ Oxid titaničitý se testuje jako součást kostního cementu. K upevnění implantátu v kosti se užívá například BaTiO_2 .⁷

V neposlední řadě se využívá jako keramický implantát krystalický diamant či kvazikrystalický pyrolytický uhlík. Tyto implantáty se stavbou podobají grafitu, jsou anizotropní a mazací, a tedy mají výborné předpoklady fungovat jako kostní náhrady.⁷

3.3.3. Polymery

Polymery se dělí na dva druhy – přírodní a syntetické. Přírodní polymery jsou např. kolagen, želatina, chitosan, alginát, hyaluronan, fibrin nebo hedvábí. Tyto látky se velmi často užívají v kostním tkáňovém inženýrství. Syntetické polymery si získávají stále větší využití, jelikož jejich výroba neznámá velký problém a jejich mechanické vlastnosti jsou lepší než u přírodní alternativy. Mezi často užívané látky patří PLGA = poly(lactic-co-glycolic) acid, PLLA = poly-L-lactide acid a PCL = polycaprolactone. Například polyglykolová kyselina (PGA) se používá v medicíně jako stehy, protože je to látka, která se v těle dobře rozkládá na glykolovou kyselinu. Glykolová kyselina se z těla vyloučí močí. Jednou z nevýhod umělých polymerů je fakt, že dojde k vyloučení velkého množství kyselin v průběhu rozkladu materiálu.⁸

Z polymerů se jako kostní cement užívají polyakrylátové implantáty. Kostní cement se vyrábí z prášku PMMA a z kapaliny monomerického metylmetakrylátu s přidávkou hydrokvinonu.⁷

3.3.4. Kompozity

Kompozity jsou přírodního i umělého charakteru. Mezi přírodní se řadí například zubní tkáň, která se nachází pod sklovinou. Kostní komponenty (obsahující metylmetakrylát) a uhlíková vlákna se používají jako kostní cement a jako pórovitý povrch u ortopedických implantátů. Tento pórovitý povrch napomáhá kostnímu růstu, protože do něj zarůstá tkáň a tím je implantát pevně usazený na svém místě.⁷

3.3.5. Materiály založené na peptidech

Aby tělo nezařadilo implantovaný materiál mezi cizí objekty, začíná se rozvíjet i obor biomateriálů využívající peptidy. Například amfifilní peptidy s alkylovým koncem a jiné funkční peptidy mohou být syntetizovány do formy nanovláken.⁸

3.3.6. Kmenové a progenitorové buňky

Cílem inženýrů zabývajících se kostními tkáněmi je co nejvíce napodobit kmenové buňky nebo populace progenitorových buněk. Hlubší prozkoumání této cesty by mohlo mít velmi významný dopad na regenerativní medicínu.¹⁰

3.4. Náhrady tvrdých tkání

Standardem je užívat tzv. autologní (vlastní) kostní transplantáty neboli autotransplantáty, kdy je zdravá kostní tkáň odebrána od pacienta a je implantována do postiženého místa v těle tohoto pacienta. Jednou z největších výhod je, že zde není žádná imonologická odpověď od pacienta, jelikož je kostní tkáň úplně kompatibilní.⁸

Dalším typem transplantátu jsou allotransplantáty, které se odebírají od jedince stejného druhu nebo z kadáveru, které bylo mrazově vysušeno. Výhodou je, že nedochází k onemocněním dárce způsobeným odebíráním kosti od pacienta a následnou operací. Nevýhodou je, že může dojít k přenosu nemocí či k imunologické reakci, způsobené tím, že štěp není tělu vlastní.⁸

Aby se obešlo aspoň pár nedostatků spojených s auto- a allotransplantáty, vyvinuli vědci kostní náhrady, které jsou založeny na demineralizovaném kostním matrixu (DBM), biokeramice, kostním morfogenetickým proteinu (BMP), korálech a kompozitech. DBM je produktem allotransplantátu obsahujícího růstové faktory, kolagen a proteiny, ze kterého pak může vzniknout materiál ve formě tmelu, injekčního gelu, granulí nebo pudru. Od té doby, kdy se začal tento materiál užívat, se možnost nakažení pacienta od donora

snížila, ale neposkytuje dostatečnou oporu pro kostní růst. Biokeramika také snižuje riziko nákazy, ale z důvodu nedostatku bioaktivních molekul se může prodloužit doba léčby.⁸

Na opravu dlouhých kostí se využívají kovové biomateriály ve tvaru drátů, cvočků, šroubů či desek.⁷ Ostré okraje cvočků se zašroubovávají do kosti, aby implantát lépe držel. Je několik druhů těchto špiček, a to diamant, trojzubec a chobot. Nejvyžívanější je trojhranná varianta. Šrouby se užívají na sešroubování rozlomených částí kostí k sobě nebo ke spojení kost – kostní deska. Šrouby jsou buď samozávrtné či nesamozávrtné. Kostních desek existují čtyři typy – Richard – Hirschonova, tlaková deska AO, Shermanova deska a Eggerova deska.⁷

4. Osteoporóza

Systémová choroba kostí, které se stávají křehkými, kvůli narušení vnitřní stavby, které se projevuje jejich zvýšenou lámavostí.⁶

4.1. BMD

BMD je neinvazivní vyšetřovací metoda, tzv. osteodenzimetrie, která měří kostní hustotu. Zjišťuje se, jak velké je zastínění paprsku, který prochází zkoumanou kostí.⁶ Viz předchozí.

Dle World Health Organization (1992) se kostra hodnotí jako normální, pokud se nachází BMD v rozmezí jedné standardní odchylky v porovnání s mladým jedincem, tzv. T-skóre. Malé množství kostní hmoty, tzv. osteopenie, je při BMD od $-1,0$ do $-2,5$ standardní odchylky. Osteoporóza nastává, pokud je BMD méně jak $-2,5$ standardní jednotky. To ale není ukazatel osteoporózy u pacientů starších 75 let. Tam se využívá stupnice Z-skóre.

Osteoporóza se dělí na:

- Osteoporóza bez zlomenin – snížená hustota kostní hmoty bez fraktur
- Osteoporóza se zlomeninami – snížená hustota kostní tkáně a 1-3 obratlové zlomeniny
- Pokročilá osteoporóza – snížená denzita, velké množství fraktur – páteřní i mimopáteřní

Osteoporóza je vážným problémem po celém světě. Díky ní jsou zlomeniny předloktí, krčků stehenních kostí a obratlů mnohem častější. Fraktury krčku femuru jsou u 12 – 20% pacientů osudné. Úmrtnost po tomto zranění je vyšší než mortalita po rakovině vaječníků, dělohy a děložního hrdla dohromady. Tato choroba má několik příčin – dědičnost,

nestandardní chování žláz s vnitřní sekrecí, nehybnost, choroba jater a ledvin, cukrovka nebo i rakovinatovorné bujení.⁶

Podle jiného dělení existují dva typy osteoporózy – osteoporóza prvního a druhého typu. Osteoporóza prvního typu se nazývá postmenopauzální a osteoporóza druhého typu je známá jako senilní. První typ obvykle přechází v druhý.⁶ Postmenopauzální typ se vyskytuje u pacientů ve věku 51 až 65 let a mezi nemocnými převažují ženy. Obvykle k ní dochází úbytkem pohlavních hormonů – estrogenů nebo androgenů. Senilní osteoporóza se vyskytuje u lidí nad 65 let a mezi pacienty je opět více žen.⁶

4.2. Faktory

4.2.1. Neovlivnitelné faktory

Těmito faktory jsou pohlaví, genetika a rasová příslušnost. Například bílá rasa má více postižených osteoporózou než rasa černá. U genetiky se zjišťuje spojení osteoporózy s polymorfismem receptorů vitamínu D a s tvorbou kolagenu.⁶

4.2.2. Ovlivnitelné faktory

Ve 25 letech objem kostní hmoty dosáhne maxima. To je ovlivněno geneticky, ale částečně i zdravým životním stylem a potravou obsahující velké množství vápníku. Je výhodné mít v těle velké množství kostní hmoty, jelikož s jejím vyšším množstvím klesá ohrožení osteoporózou.⁶

4.2.3. Částečně ovlivnitelné faktory

Do této kategorie patří špatná resorpce vápníku ve střevě, nadměrné vylučování vápníku močí, brzká menopauza, poruchy menstruace nebo například hypogonadismus.⁶

4.3. Symptomy

Osteoporóza se projevuje různými způsoby. Mohou to být bolesti zad – páteře, které zasahují do dolních končetin. Obvykle dojde k diagnóze po zlomenině, která vznikla po nepřiměřeném úrazu.⁶

4.4. Muži

Mužská osteoporóza se nevyskytuje v takovém množství jako ženská osteoporóza. Je tomu tak hlavně kvůli odlišné tloušťce mužských kostí a pomalejšímu odbourávání kostní hmoty. U mužů je tato choroba způsobena nižší koncentrací testosteronu v těle.⁶ Tento nedostatek vede k nízké sekreci kalcitoninu a tedy k menšímu množství kalcitriolu

v organismu. Léčbou je zvýšený přísun vápníku, vitamínu D, pravidelný pohyb, sledování optimálního množství testosteronu a omezení alkoholu a cigaret.⁶

4.5. Osteoporóza idiopatická

Tento typ je patrně jediný, ve kterém je mezi pacienty více mužů. Stanovuje se u těch postižených, u kterých se vyloučily všechny ostatní známé faktory. Při léčbě tohoto typu se užívají antiresorpční léčiva – biofosfáty či kalcitonin – společně s vápníkem a vitamínem D. U pacientů s kalciurí se přidávají ještě thiazidy.⁶

4.6. Glukokortikoidy

Takzvaná kortikoidní osteoporóza se vykytuje u osob, které užívaly kortikoidy déle jak 6 měsíců. Bezpečná dávka kortikoidů pro člověka není známa, ale tvrdí se, že se pohybuje okolo 7,5 mg za den. Glukokortikoidy zpomalují zpětné vstřebávání vápníku a naopak podporují vylučování vápníku močí.⁶ Tímto procesem se zvyšuje vylučování parathormonu, osteoklastů a zpomaluje se vznik kostí pomocí osteoblastů. Léčebnou metodou je užívání vápníku, vitamínu D a kalcitoninu injekčně či pomocí nosního spreje.⁶

4.7. Dětská osteoporóza

Dětská osteoporóza se obvykle zjišťuje pomocí rentgenových snímků, na kterých lze vidět odvápnění kostí. V ohrožení jsou dospívající před pubertou. Může k ní dojít buď díky genetickým predispozicím, nebo špatnými stravovacími návyky v dětství.⁶ Léčbou je snížení námahy na postižené kosti, včasná rehabilitace, aplikace kalcitriolu a fluoridů.⁶

4.8. Léčba

Pokud je osteoporóza už v pokročilé formě, nelze ji už léčit, ale jde ji jen zastavit či zpomalit. Jedná se o aktivaci osteoblastů, které tvoří kostní hmotu. Terapie je dlouhodobá a psychicky náročná pro pacienta i lékaře. Velmi významné je zjistit u pacienta rodinnou anamnézu, a tak vypátrat, zda má genetické predispozice pro toto onemocnění, a zahájit prevenci, než se nemoc spustí.⁶

4.8.1. Léčba pomocí fyzické aktivity

Je prokázáno, že přiměřený pohyb zvyšuje aktivitu osteoblastů, a tím i objem kostní hmoty. Vysvětluje se to tím, že vznikající krystalky při cvičení pracují a postupně se přesouvají do míst větší zátěže. Cvičením se také uvolňují stažené svaly v okolí kosti, které

mohou postižené bolet. Takovýmto posilováním dojde také k tomu, že svaly okolo páteře budou větší a budou lépe tlumit tření obratlů o sebe.⁶

4.8.2. Léčba pomocí hormonů

Tato léčba se označuje jako substituční a má velice dobré výsledky při terapii a při prevenci postmenopauzální osteoporózy. Odstraňuje také jiné příznaky, které doprovázejí ženy v přechodu. Ženy tuto terapii podstupují po dobu 5-7 let, po delší době by mohla způsobovat rakovinu prsu či děložní sliznice. Půlroční aplikace estrogenů vyrovná koncentraci tohoto hormonu na optimální hladinu a dojde k vylepšení kostní mikrostruktury. Dlouhodobé užívání zmenší procento fraktur na 50%.⁶ Substituční léčba zmenší riziko zlomenin krčku a vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Je možné si vybrat mezi léčbou perorální a transdermální. Transdermální léčba je výhodná proto, jelikož estrogeny jsou do těla přiváděny kontinuálně. Perorální má zase své klady v tom, že jejich vstřebání je velmi rychlé. Jejich negativum ale je, že se nedají předepsat kuřáčkám, jelikož se pak estrogeny v játrech mění na neúčinné sloučeniny a ještě ke všemu brání funkci čidel reagující na estrogeny. Perorální léčiva se nedoporučují ani pro pacienty s hypertriglyceridemií či lehkou hypertenzí. Hormonální léčba se nedá využít, pokud má pacientka rakovinu prsu nebo například děložní sliznice.⁶ S výhodou se u pacientek s intaktní dělohou užívá též estrogeno-gestagenní léčba. Ta je buď cyklická či kontinuální – souvisí s menstruačním cyklem.⁶

4.8.3. Léčba difosfáty

Difosfáty (známé též jako bisfosfonáty či deriváty kyseliny difosforečné) vykazují schopnost snížit kostní resorpci, rozpustnost minerálů v kostní tkáni a některé dokonce inhibují ukládání minerálních látek do osteoidů. Jejich vliv na osteoklasty je způsoben tím, že se naváží na hydroxyapatitové částičky, pak dojde k místní relaxaci během osteoresorpce, jejich nahromadění mezi osteoklasty a tím i klesne aktivita osteoklastů. Postupně se zmenšuje objem vzniklých místních kyselin, lyzozomálních enzymů a prostaglandinů. Konečnou fází je zmenšení stavu osteoklastů.⁶

Jelikož se při podání léčiva ústně vstřebá v žaludku a tenkém střevě jen asi 1 – 10 %, je potřeba je aplikovat před jídlem. Pokud by pacient před podáním bifosfonátů jedl, byl by podíl vstřebané látky ještě nižší.⁶

Bylo zjištěno, že bifosfonáty znatelně snížily četnost zlomenin a bylo prokázáno, že hustotu kostní tkáně se zvýšila. Bifosfonáty se zabudovávají do kostí a osteoresorpci se dostávají do kostní tekutiny, kde patrně i po ukončení léčby snižují kostní resorpci.⁶

V současné době je u nás dostupný etidronát, clodronát, pamidronát a alendronát. Alendronát (Fosamax) je nejvíce předepisovaným léčivem osteoporózy, protože napříč všemi věkovými skupinami zvyšuje osteodenzitu. Etidronát a clodronát nepatří mezi ty nejčastěji užívané, jelikož po jejich nadměrném užití dochází k ukládání látek do osteoidů. Etidronát se podává každé dva týdny po dobu čtvrt roku. Je prokázáno, že po jeho aplikaci se hodnoty BMD zvyšují, ale spojitost s četností fraktur není zcela objasněna. Pamidronát a clodronát se aplikuje u pacientů s Pagetovým onemocněním či plazmocelulárním myelomem.⁶

Ve fázi testování jsou tiludronát, residronát a zoledronát. Tyto látky účinkují již v mnohem nižších dávkách, neovlivňují mineralizaci a mohou se podávat delší dobu. Dále je také pozornost zaměřena na jediné intravenózní léčivo, a to ibandronát, který se společně s pamidronátem zkouší aplikovat při léčbě postmenopauzální či kortikoidní osteoporózy.⁶

Difosfáty se nesmí užívat, pokud má pacient diagnostikovanou renální insuficienci, vředy, hypokalcémii či krvácivé stavy. Nesmí být také předepsány těhotným či kojícím ženám.⁶

4.8.4. Léčba kalcitoninem

Existuje několik druhů kalcitoninu – např. lidský, vepřový, lososí. Zajímavé je, že lososí je 3x účinnější než lidský.⁶

Kalcitonin se předepisuje osobám s Pagetovou chorobou, zvýšenou osteoresorpcí či vysokoobratovou osteoporózou. Mezi vedlejší účinky patří návaly nebo průjmy. Nevýhodou je, že tělo postupně přestane na tento hormon reagovat – stane se vůči němu odolným. Často je užíván ženami, kterým nemohl být předepsán lék obsahující estrogény. U pacientek s vysokoobratovou osteoporózou se aplikuje 100 – 200 IU společně s vápníkem. Vápník je důležitý kvůli hypokalcemizujícímu vlivu hormonu, který vede k nadprodukci parathormonu.⁶

Aplikace probíhá přes nosní sliznice, takže není závislá na nemocničním prostředí. Léčba může být buď krátkodobá, nebo dlouhodobá. Dlouhodobá (cca 5 let) je výhodnější, protože u krátkodobé by se receptory mohly zanést velkým množstvím podávané látky, a tak by se snížila efektivita.⁶

4.8.5. Léčba pomocí fluoridových solí

Fluoridové soli stimulují tvorbu kostní hmoty. K tomuto procesu dochází patrně kvůli inaktivaci fosfotyrosylproteinfosfatázy fluoridem. Fluoridy zde nahrazují hydroxylové anionty v kosti, takže se mění rozpustnost HA v kosti, a ten se stává netečný vůči osteoresorpci. Kvůli tomu se prodlužuje interval ukládání minerálů do kostní tkáně, a proto trvá déle i samotná tvorba kosti. Kvůli dobré interakci s tělem se předepisuje monofluorofosfát podávaný společně s vápníkem a vitamínem D. Fluoridy by se neměly užívat déle jak 5 let.⁶

Při překročení optimální dávky dochází ke vzniku velkého množství osteoidů a špatné mineralizaci. Kost je také mnohem více porézní a křehká. Vedlejšími účinky jsou bolesti zubů a problémy s trávicím traktem.⁶

Tato léčiva by neměla být předepisována dětem, adolescentům, pacientům se selhávajícími ledvinami či s osteomalacií.⁶

4.8.6. Léčba pomocí vápníku

Nejčastěji užívané léčivo proti osteoporóze na celém světě je právě vápník. Je ověřeno, že pravidelný příjem snižuje osteoresorpci i v období klimakteria. Nejvýhodnější je podávat vápník společně s HRT, jelikož se tak dosahuje mnohem lepších výsledků. Optimální denní dávka pro osteoporotické pacientky je 1 – 1,5 g za den. Je potřeba správně vyvážit příjem kalcia, jelikož po určité době dochází k jeho špatnému vstřebávání. Dávkování tedy musí být takové, aby vylučování PTH bylo nízké, a zároveň musí podporovat i vylučování kalcitoninu. Resorpce vápníku je se zvyšuje přítomnosti vitamínu D, laktázy či v oblasti nižšího pH. Denně může člověk přijmout až 2,5 g vápníku, pokud nemá problémy s urolitiázou nebo pokud netrpí příliš vysokým střevním vstřebáváním vápníku.⁶

Nejllepší je přijímat vápník potravou, jelikož testy prokázaly, že je lépe absorbovatelný než kalciové tablety. Kalciové tablety mají různé složení, mohou být ve formě karbonátu, solí laktózy, glukonátu či soli kyseliny citronové. Karbonát je ve vodě nerozpustný, a proto je potřeba ho podávat pacientům na lačno, aby měli v žaludku dostatečné množství HCl. Naopak nejlépe absorbovatelnou sloučeninou je citrát vápenatý. Se stoupajícím věkem klesá střevní absorbovatelnost – snižováním koncentrace estrogenů dochází k menší citlivosti enterocytů na aktivní metabolit vitamínu D₃. Vápník lze do těla dodávat také parenterálně po dobu 14 dní. Při algickém syndromu se vápník aplikuje přímo do žíly či do tepny.⁶

Mezi léčiva tohoto typu se řadí Biomin H plv, který obsahuje i IGF-I. Dále je na trhu také Osteogenon, který pozitivně působí na osteoblasty a snižuje činnost osteoklastů.⁶

4.8.7. Léčba vitamínem D

Senzory reagující na přítomnost vitamínu D jsou prakticky v celém těle. Pokud je vitamín D přenášen po těle, vyskytuje se ve formě 25(OH)D. Když už reaguje v místě určení (střevo, kostní tkáň, placenta, ...), přemění se na formu $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Jestliže je jeho koncentrace optimální, stará se o syntézu proteinu, který na sebe poutá vápník, dále zasahuje do procesu ukládání anorganických částic do kostí a také příznivě ovlivňuje přenos vápníku a fosforu v ledvinách a placentě. I když se u žen po přechodu koncentrace kalcidiolu drží v příznivých hodnotách, o množství kalcitriolu se toto říct nedá. Množství zpětně vstřebaného vápníku ze střev je tedy stále nižší.⁶

Umělé dodávání vitamínu D by tedy mělo zvyšovat resorpci vápníku a využívá se toho především u pacientů v důchodovém věku.⁶

4.8.8. Léčba anabolickými steroidy

Mezi tyto steroidy řadíme mimo jiné hormon testosteron, který je mužským hormonem a tvoří se ve varlatech. Testosteron má za účinek tvořit hmotu a to je vidět i na kostní tkáni. Jeho přímý vliv na kost není potvrzen, ale existují důkazy o nepřímém působení na tvorbu kolagenu v osteoblastech. Pohlavní hormony společně s růstovým hormonem a s insulinu podobnými růstovými faktory (IGF-I) se také podílejí na vzniku kostní hmoty. Pohlavní hormony pozitivně ovlivňují vylučování růstového hormonu, proto také u pacientů s hypogonadismem dochází k poruchám kostní tvorby, které mohou vést ke vzniku k osteoporózy.⁶

Ačkoliv tato léčba nemá přesně daný cíl, je s výhodou využívána ještě s jiným typem léčby osteoporózy.⁶

Existují dva typy steroidů - 17α -alkylované steroidy a 17β -estery anabolických steroidů. Do první skupiny léků patří např. Stromba, Dianabol či Stenolon. Nežádoucími účinky této skupiny léčiv jsou intrahepatální cholestáza, zvýšený tlak, zadržování vody v těle nebo např. rakovina jater u žen. Mezi druhé typy léčiv se řadí např. Superanabolon.⁶

4.8.9. Léčba parathormonem

Vysoké množství parathormonu způsobuje demineralizaci kostní tkáně. Jestliže je ale parathormon dodáván do těla v menších množstvích a přerušovaně, stimuluje vznik nové kostní hmoty. Je také třeba přítomnost STH.⁶

Parathormon působí na osteoblasty, které vylučují peptid, jenž má pozitivní vliv na aktivitu osteoklastů. Tak dojde k vyloučení STH, který podporuje činnost osteoblastů. Podávání malého množství PTH také podporuje vznik insulinu podobných růstových faktorů (IGF-I), který působí na osteogenitorové buňky. Osteogenitorové buňky jsou výchozí částice, z nichž vznikají osteoblasty.⁶

Parathormon by měl být podle studií užíván na léčbu postmenopauzální osteoporózy. V ČR se ale parathormonová léčba neosvědčila.⁶

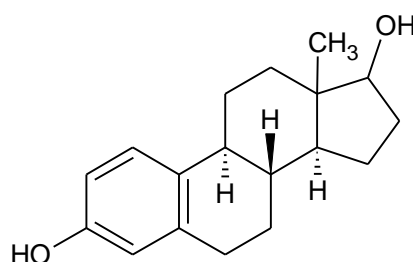
4.9. Léčiva

Antiosteoporotická léčiva se dle účinku dělí na dva typy – snižující kostní resorpci a podporující vznik kostní tkáně.⁶

- Snižující kostní resorpci – Do této skupiny se řadí vápník, vitamin D, kalcitonin, HRT, difosfáty a Ipriflavon.⁶
- Podporující vznik kostní tkáně – Mezi léčiva tohoto typu patří fluoridy, PTH, anabolické steroidy, tamoxifen a raloxifen.⁶

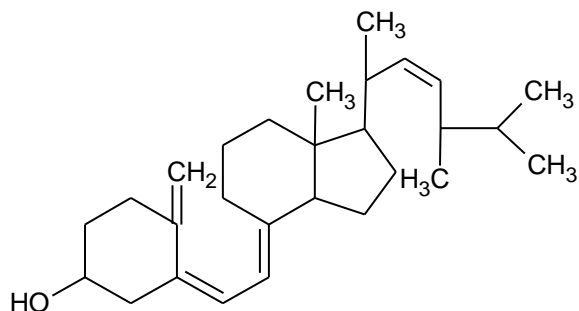
4.9.1. Transdermální léčiva

System 50 je transdermální preparát užívající se v ČR nejčastěji. Jak již bylo zmíněno v předchozím textu, základem této látky je estradiol, konkrétně estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol. Dále se z této skupiny léčiv užívají Estraderm či Dermestril.⁶



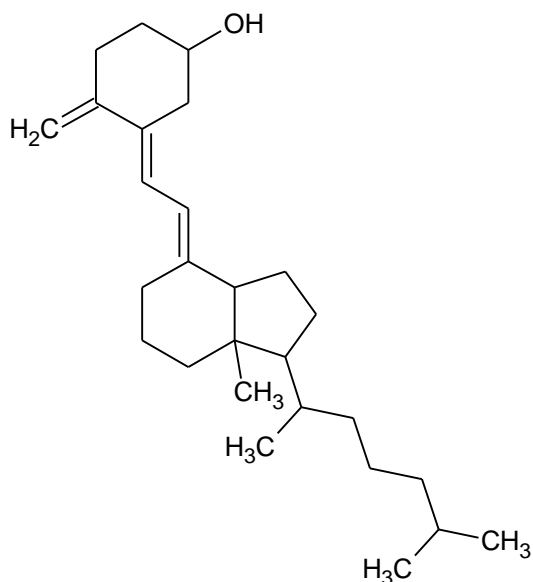
Obr. 4 - Estradiol

Dalším parenterálně podávaným přípravkem je Calciferol, který do těla dodává vitamin D₂.⁶



Obr. 5 - Kalciferol

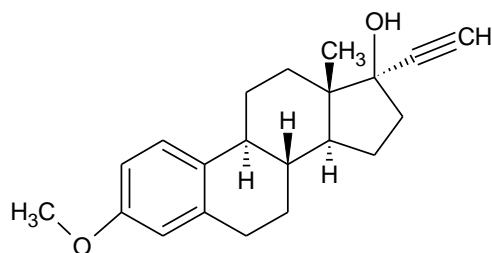
Také pomocí Vigantolu, který se podává jak parenterálně, tak enterálně, se tělu přidává vitamin D₃.



Obr. 6 - Cholekalciferol

4.9.2. Perorální léčiva

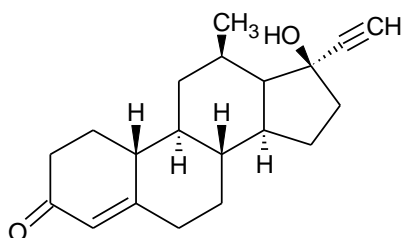
Tento typ léčiv obsahuje pouze estrogeny. V ČR se využívá Estrofem ve formě tablet, který dodává do těla estradiol, nebo například Mestranol, který v organismu zvyšuje koncentraci mestranolu.⁶



Obr. 7 - Mestranol

4.9.3. Perorální léčiva – kombinovaná

Tato léčiva obsahují jak estrogenní, tak gestagenní složku. V ČR se využívá přípravek Trisequens. Estrogenní částí je estradiol a gestagenní složkou je norethisteronacetát. Norethisteron patří do skupiny progestinů a využívá se například na léčbu poruch menstruace.⁶



Obr. 8 - Norethisteron

4.10. Sledování postupu léčby

Vyšetření se podstupují individuálně, dle potřeb každého pacienta. Při bolestech je třeba pořídit RTG snímek páteře. Po 2 letech léčby by se mělo objevit mírné zvýšení objemu kostní hmoty v páteřní oblasti a na krčku femuru.⁶

5. Závěr

Tato práce obsahuje v první části popis složení kostní tkáně. Dále jsou zde uvedeny některé chemické metody používané k analýze struktury kostí a osteologické metody užívané při diagnostice kostních onemocnění u pacientů. V dalších částech je pozornost zaměřena na výživu, která ovlivňuje růst kostí a jejich správný vývoj, na hormony působící na lidské tělo především v době vývinu, na dopad některých chemických látek na lidský organismus a nejobvyklejší onemocnění kostní tkáně. V neposlední řadě je v této práci zmíněno využití biomateriálů a jejich stručný popis a poslední kapitola je věnována osteoporóze.

Kvůli tendenci obyvatelstva dožívat se stále vyššího věku je třeba se zabývat možnostmi léčby kostních onemocnění, která jsou ve skupině starších obyvatel čím dál častější.

6. Použitá literatura

1. JUNQUEIRA, Luiz Carlos, CARNEIRO, José, KELLEY, Robert, O. *Základy histologie*. 7th ed. Jelínek, Richard. Jinočany: H&H, 1997. 502 s. 1-2, 133-136, 116-117, 148-149. ISBN 80-85787-37-7.
2. LOCHMANN, Otto, *Nežádoucí účinky antibiotik*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1990. 221 s. 107, 147-148. ISBN 80-201-0049-0.
3. TICHÝ, Miloš. *Toxikologie pro chemiky: Toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*. 2. vyd. Praha: Karolinum, 2003. 119 s. 72-73, 75-76, 79-81, 95. ISBN 80-246-0566-X.
4. PROKEŠ, Jaroslav. *Základy toxikologie: Obecná toxikologie a ekotoxikologie*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 1997. 169 s. 39-40, 43-44. ISBN 80-7184-418-7.
5. NEVORAL, Jiří. *Výživa v dětském věku*. 1. vyd. Jinočany: H&H, 2003. 438 s. 42-43, 304. ISBN 80-86-022-93-5.
6. BROULÍK, Petr. *Osteoporóza: Osteoporóza, osteomalacie, osteodystrofie*. Praha: Maxdorf, 1999. 176 s. 44, 51-64, 68-86, 89-93, 96-105, 129-134, 137-153. ISBN 80-85800-93-4.
7. KOUTSKÝ, Jaroslav. *Biomateriály*. Plzeň: Západočeská univerzita, 1997. 74 s. 3-8, 10-15, 22-23, 27-28, 35-36. ISBN 80-7082-370-4.
8. BASU, Bikramjit, DHIRENDRA, S. Katti, KUMAR, Ashok. *Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing and Applications*. Westerwille, Ohio: The American Ceramic Society, c2009. 746 s. 6-8, 22-23, 42-43, 444, 552-553, 560, 570. ISBN 978-0-470-19340-2.
9. PAUSCH, Niels Christian, HEMPRICH, Alexander, HALAMA, Dirk. Paget's disease of the mandible: a differential diagnosis of the osteomyelitis of the jaw. *Swiss Dental Journal*. 2014, 124(3), 325-332. ISSN 2296-6498.
10. WALMSLEY, Graham C., RANSOM, Ryan C., ZIELINS, Elizabeth R., LEAVITT, Tripp, FLACCO, John S., HU, Michael S., LEE, Andrew S., LONGAKER, Michael T., WAN, Derrick C. Stem cells in bone regeneration. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2016, 12(5), 524-529. ISSN 1558-6804.
11. BUDDHACHAT, Kittisak, KLINHOM, Sarisa, SIENGDEEE, Puntita, BROWN, Janine L., NOMSIRI, Raksiri, KAEWMONG, Patcharaporn, THITARAM, Chatchote, MAHAKKANUKRAUH, Pasuk, NGANVONGPANIT, Korakot. Elemental analysis

- of bone, teeth, horn and antler in different animal species using non- invasive handheld X-ray fluorescence. *PLoS One*. 2016, 11(5), 1-21. ISSN 1932-6203.
12. BYRNES, Jennifer F., BUSH, Peter J. Practical Considerations in Trace Element Analysis of Bone by Portable X-ray Fluorescence. *Journal of Forensic Science*. 2016, 61(4), 1041-1045. ISSN 1556-4029.
 13. MOSTAFAEI, Farshad, NIE, L.H., The study of in vivo x-ray fluorescence (XRF) technique for gadolinium (Gd) measurements in human bone. *Journal of Instrumentation*. 2016, 11(8), 1-10. ISSN 1748-0221.
 14. SPECHT, Aaron J., LIN, Yanfen, WEISSKOPF, Marc, YAN, Chonghuai, HU, Howard, XU, Jian, Nie, Linda H. XRF-measured bone lead (Pb) as a biomarker for Pb exposure and toxicity among children diagnosed with Pb poisoning. *Biomarkes*. 2016, 21(4), 347-352. ISSN 1354-750X.
 15. BOURGEOIS, Damien, BURT-PICHAT, Brigitte, LE GOFF, Xavier, GARREVOET, Jan, TACK, Pieter, FALKENBERG, Gerald, VAN HOOREBEKE, Luc, VINCZE, Laszlo, DENECKE, Melissa A., MEYER, Daniel, VIDAUD, Claude, BOIVIN, Georges. Micro-distribution of uranium in bone after contamination: new insight into its mechanism of accumulation into bone tissue. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015, 407(22), 6619-6625. ISSN 1618-2642.
 16. RIGGS, B. Lawrence, BASSINGTHWAIGHTE, James B., JOWSEY, Jenifer, PEQUEGNAT, E. Peter. Autoradiographic method for quantitation of deposition and distribution of radiocalcium in bone. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1970, 75(3), 520-528. ISSN 0022-2143.
 17. TONNA, Edgar A., PENTEL, L., Autoradiographic study of the histolocalizaion of ⁸⁵Sr in the newborn mouse. *Archives of Oral Biology*. 1967, 12(2), 183-188. ISSN 0003-9969